

УТВЕРЖДЕНА
приказом Росздравнадзора
от «___» _____ 2009 г.
№ _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Президент
МБООИ «Общество больных
гемофилией»
Ю.А. Жулев
« 29 » 29 _____ 2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению Реагента для приготовления стабилизатора крови
(Цитрат натрия)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент (после разбавления в 10 раз) используется в качестве стабилизатора плазмы крови при получении плазмы крови для исследования параметров гемостаза, а также для исследования СОЭ.

Один комплект реагента (6 флаконов по 10 мл) предназначен для проведения 600 заборов крови (по 1,0 мл разведенного в 10 раз реагента на один забор крови).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Реагент Цитрат натрия после разбавления в 10 раз до концентрации 0,105-0,115 М смешивают с кровью в соотношении 1 : 9 с целью связывания ионов кальция, необходимых для осуществления процесса свертывания крови; процесс свертывания крови при этом предотвращается, кровь сохраняется вне организма с максимальной сохранностью ее биологических свойств.

2.2. Состав набора

Раствор натрия лимоннокислого (цитрата натрия) трехзамещенного, 1,05-1,15 М – 6 флаконов (по 10 мл).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ

Роль кальция в гемостазе многообразна и очень существенна: без ионов кальция не происходит связи факторов свертывания с фосфолипидной поверхностью, активация фактора XIII, образование и стабилизация фибринового сгустка, активация тромбоцитов.

Трехзамещенный цитрат натрия обладает специфической способностью связывать ионы кальция и предотвращать реакции свертывания крови. Цитрат натрия способен также стабилизировать лабильные факторы свертывания: фактор V и фактор VIII.

Цитратная плазма, обогащенная тромбоцитами, не изменяет свойств тромбоцитов и используется для изучения их агрегации. Таким образом, цитрат натрия является антикоагулянтом выбора для коагулологических исследований.

Кровь смешивают с цитратом натрия в соотношении 9 : 1. Большое количество антикоагулянта по отношению к плазме может вызвать удлинение АЧТВ и протромбинового времени.

Гематокрит в пределах 25-55% не влияет на результаты анализов, но при превышении гематокрита выше 60% наблюдается «ложная» гипокоагуляция. При снижении гематокрита ниже 25% обнаруживается «ложная» гиперкоагуляция.

Наиболее частой ошибкой является плохое перемешивание крови со стабилизатором. Для предотвращения этого требуется немедленно после заполнения кровью пробирки с цитратом натрия закрыть крышкой (не резиновой) или чистой полиэтиленовой пленкой и 3-5 раз медленно перевернуть без встряхивания, избегая образования пены.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения реагента Цитрат натрия – класс 2а.

4.2. При работе с реагентом следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.3. При работе с образцами крови следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

4.4. При попадании концентрированного раствора реагента на кожу и слизистые оболочки необходимо промыть пораженные участки большим количеством проточной воды.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ:

- Пипетки полуавтоматические одноканальные переменного объема, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,1, 0,4, 0,5 мл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (ошибка не более 3%);

- вода дистиллированная;
- градуированные пробирки пластиковые или стеклянные силиконизированные;
- центрифуга лабораторная, развивающая ускорение 1200 g;
- центрифуга для определения гематокрита;
- стерильные марлевые тампоны;

- перчатки резиновые или пластиковые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Приготовить рабочий раствор Цитрата натрия: в градуированную пробирку вместимостью 10 мл внести 1,0 мл раствора Цитрата натрия с концентрацией 1,05-1,15 М, добавить 9,0 мл дистиллированной воды, закрыть пробирку пробкой и перемешать переворачиванием.

В пластиковую или стеклянную силиконизированную градуированную пробирку вместимостью 10 мл внести 1,0 мл рабочего раствора Цитрата натрия с концентрацией 0,105-0,115 М.

Кровь отобрать из локтевой вены утром натощак силиконизированной иглой с широким просветом: внутренний диаметр 0,6-1,0 мм. Выпустить первые капли крови на стерильный тампон и наполнить пробирку с рабочим раствором Цитрата натрия кровью до объема 10 мл. Закрыть пробирку пробкой. Перемешать кровь и раствор Цитрата натрия, аккуратно переворачивая пробирку не менее пяти раз, избегая вспенивания.

Если пациент имеет пониженный или повышенный гематокрит, то результаты коагулологических тестов могут быть недостоверны из-за неправильной концентрации антикоагулянта в плазме. В этом случае соотношение Цитрат натрия : кровь должно быть скорректировано с учетом данных гематокрита (см п. 7.1).

7. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

7.1. Приготовление плазмы крови для исследования параметров гемостаза.

Определить гематокрит исследуемой крови с помощью гематокритной центрифуги.

При гематокрите 25-55% в градуированную пробирку внести 1,0 мл рабочего раствора Цитрата натрия и 9,0 мл венозной крови пациента, пробирку закрыть пробкой или пленкой и 5 раз осторожно перевернуть.

При гематокрите, отличающемся от нормы, в градуированную пробирку следует внести:

- при гематокрите 20% - 1,4 мл антикоагулянта и 8,6 мл крови;
- при гематокрите 60% - 0,8 мл антикоагулянта и 9,2 мл крови;
- при гематокрите 70% - 0,5 мл антикоагулянта и 9,5 мл крови;
- при гематокрите 80% - 0,4 мл антикоагулянта и 9,6 мл крови.

Общий объем при всех гематокритах должен составлять 10 мл.

Разбавленный раствор Цитрата натрия не следует готовить заранее в больших объемах. Рекомендуется ежедневно готовить свежий раствор Цитрата натрия, учитывая предполагаемый объем исследований.

7.2. Приготовление рабочего раствора Цитрата натрия для исследования СОЭ.

Для исследования СОЭ приготовить 5% раствор Цитрата натрия. Для этого к 1,0 мл концентрированного раствора Цитрата натрия добавить 6,6 мл дистиллированной воды.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрируется отсутствие свертывания полученного образца крови и плазмы.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

Регистрируется отсутствие свертывания крови и полученной плазмы.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Хранение реагента в упаковке предприятия-изготовителя должно проводиться при температуре 2-8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение реагента при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание реагента не допускается.

Срок годности реагента – 24 мес.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества реагента Цитрат натрия, следует обращаться в НПО «РЕНАМ» МБООИ «Общество больных гемофилией» по адресу:

125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4а, Гематологический научный центр РАМН, тел/факс (495) 614-90-57, e-mail: renam@blood.ru
и в Лабораторный Центр ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

117241, г. Москва, Научный проезд, д. 14 а, тел.: (495) 120-60-96.

Заведующий отделом производства НПО «РЕНАМ»
МБООИ «Общество больных гемофилией»
кандидат биологических наук



А.Л.Берковский

Научный руководитель лаборатории
клинической коагулологии
ГНЦ РАМН
доктор медицинских наук



С.А.Васильев